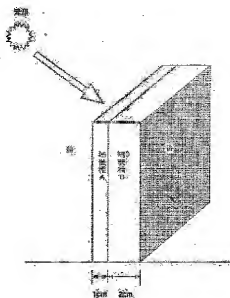


METHOD FOR INCUBATING PHOTOSYNTHETIC MICROORGANISM IN HIGH EFFICIENCY**Publication number:** JP2001309778 (A)**Publication date:** 2001-11-06**Inventor(s):** KURANO NORIHIDE; JOHAN GUROBERAA; CHO YOSHI**Applicant(s):** MARINE BIOTECH INST CO LTD**Classification:****- International:** C12M1/00; C12N1/12; C12N1/20; C12R1/89; C12M1/00; C12N1/12; C12N1/20; C12M1/00; (IPC1-7): C12M1/00; C12N1/12; C12N1/20; C12N1/12; C12R1/89**- European:****Application number:** JP20000133906 20000502**Priority number(s):** JP20000133906 20000502**Abstract of JP 2001309778 (A)****PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a method for incubating photosynthetic microorganisms, capable of effectively utilizing light energy.**SOLUTION:** This method for incubating photosynthetic microorganisms is characterized by comprising combining cells acclimated to strong light with cells acclimated to feeble light.

Data supplied from the esp@cenet database — Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-309778

(P2001-309778A)

(43) 公開日 平成13年11月6日 (2001. 11. 6)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	シーコード [*] (参考)
C 1 2 N 1/12		C 1 2 N 1/12	A 4 B 0 2 9
	1/20	1/20	A 4 B 0 6 5
// C 1 2 M 1/00		C 1 2 M 1/00	E
(C 1 2 N 1/12		(C 1 2 N 1/12	A
C 1 2 R 1:89)		C 1 2 R 1:89)	
審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 4 頁)			

(21) 出願番号 特願2000-133906 (P2000-133906)

(22) 出願日 平成12年5月2日 (2000. 5. 2)

(71) 出願人 591001949

株式会社海洋バイオテクノロジー研究所
東京都文京区本郷1丁目28番10号

(72) 発明者 藤野 直秀

岩手県釜石市平田第3地割75番1 株式会社
社海洋バイオテクノロジー研究所釜石研究
所内

(72) 発明者 ヨハン グロベラー

岩手県釜石市平田第3地割75番1 株式会社
社海洋バイオテクノロジー研究所釜石研究
所内

(74) 代理人 100091096

弁理士 平木 祐輔 (外2名)

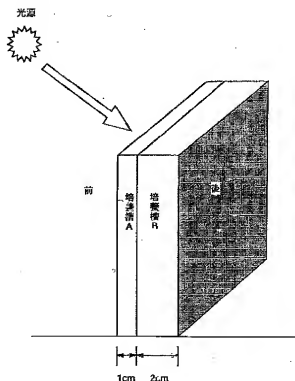
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 高効率光合成微生物培養方法

(57) 【要約】

【課題】 光エネルギーを有効に活用することのできる培養方法を提供する。

【解決手段】 強光に順化した細胞と弱光に順化した細胞とを組み合わせることを特徴とする光合成微生物の培養方法。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 強光に順化した細胞と弱光に順化した細胞とを組み合わせることを特徴とする光合成微生物の培養方法。

【請求項2】 平板型の培養槽を光源方向に重層的に設置し、光源から近い培養槽で強光に順化した細胞を培養し、光源から遠い培養槽で弱光に順化した細胞を培養することを特徴とする請求項1に記載の光合成微生物の培養方法。

【請求項3】 人工光源として蛍光灯、白熱電球、又はキセノンランプを用いて培養槽の片側から均一に光を照射し、あるいは自然の太陽光を利用して培養することを特徴とする請求項1に記載の光合成微生物の培養方法。

【請求項4】 平板型の培養槽を距離をあげずに並列して培養することを特徴とする請求項1に記載の光合成微生物の培養方法。

【請求項5】 距離をあげずに並列した複数の平板型の培養槽を一セットとして、そのセットを複数平行に設置することを特徴とする請求項1に記載の光合成微生物の培養方法。

【請求項6】 請求項5に記載のセットを直立、あるいは設置場所の緯度に応じて傾斜させて設置することを特徴とする請求項1に記載の光合成微生物の培養方法。

【請求項7】 光捕集のためのアンテナクロロフィル量が少ない細胞と、アンテナクロロフィル量が多い細胞とを組み合わせることを特徴とする請求項1に記載の光合成微生物の培養方法。

【請求項8】 アンテナクロロフィル量が少なく最大光合成活性が高い細胞と、アンテナクロロフィル量が多く最大光合成活性が低い細胞とを組み合わせることを特徴とする請求項1に記載の光合成微生物の培養方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は光合成微生物の培養方法に関し、さらに詳細には光合成微生物による有用物質生産、健康補助食品生産などの分野において光の利用効率を改善する培養方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 光独立栄養的に増殖する微生物（例えば、緑藻やラン藻などの微細藻類、光合成細菌）は、光のエネルギーを利用して二酸化炭素と水から有機物を合成して生命を営んでいる。従って、高効率に光合成微生物を培養するためには如何に光を供給することが重要なポイントである。この点に関して、例えば平板型培養槽を有する高効率光合成微生物培養装置（特開平10-150974号公報）が開発され、微生物細胞に十分光が供給されるようになった。しかし、この平板型培養槽を含む培養装置は、培養槽内の細胞濃度分布が均一になるような工夫がなされており、与えられる光強度に応じた光合成特性を有する細胞のみを培養するものであった。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 本発明は、光合成微生物が与えられた光環境に順化する生理的能力を有している点に着目し、この生理的特性を活用して、より一層効率がよく、新規で、かつ従来法の欠点を克服した光合成微生物の培養法を提供することを目的とするものである。

【0004】

【課題を解決するための手段】 本発明者等は、上記の課題に関して鋭意検討を重ねた結果、光合成微生物が持つ光合成色素の量と光合成活性の関係をに着目して、色素含量の高い細胞と低い細胞とを組み合わせることに従来よりもはるかに効率よく光合成微生物の培養が可能であることを見出した。

【0005】 光合成微生物を効率よく培養する際の大きな問題点のひとつに、細胞による光相互遮蔽効果が挙げられる。培養槽に入射した光は細胞に吸収されて光が上のエネルギー源として利用されるが、細胞濃度が上がると培養液の深部に存在する細胞には十分な光が供給されなくなって、全体としての光エネルギー利用効率が低下してしまう現象が観察される。これが、いわゆる相互遮蔽効果である。この欠点を克服するために平板型培養槽を含む高効率光合成微生物培養装置（特開平10-150974号公報）が考案されたが、本発明においては光合成微生物の生理的要件に注目して、新規な培養方法を創案した。

【0006】 光合成微生物は、与えられた光環境に応じて細胞内の光合成色素含量を変化させる能力を有している。例えば、緑藻 *Dunaliella salina* は強光に順化してアンテナクロロフィルの含量を低下させ、また、強光下で高い光合成活性（すなわち高い増殖速度）を示すことが知られている。一方、弱光に順化した細胞では最大光合成活性が低下するが、アンテナクロロフィル量が高く弱い光を効率よく利用して光合成を行う。図1に強光順化細胞と弱光順化細胞の光合成活性を示す。横軸に光強度、縦軸に光合成酸素発生活性を表した。図に示される様に、光が弱い場合（この図で $160 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以下）、強光順化細胞より弱光順化細胞の方が光合成酸素発生速度が高いが、それ以上の光強度では強光順化細胞の方が光合成速度も高く最大光合成速度自体も高い。この光強度に対する反応性の違いを利用して強光順化細胞と弱光順化細胞とを組み合わせると、光エネルギー利用効率が改善される。以下、その内容を説明する。

【0007】 特開平10-150974号公報に記載された平板型培養槽、即ち、少なくとも両側面が光透過性透明材料で作られかつ該両側面間の距離がほぼ2cm以下である培養槽を複数用意し（第2図、平板培養槽二枚の例）、光強度に近い方から順番に培養槽A、Bとする。厚さは同じか、あるいはBよりもAの方が薄くなるように、例えばAが1 cm、Bが2 cmとする。両方の培養槽に光合成微生物

を入れて連続培養すると、培養槽Aで増殖した細胞には十分に光が供給されるため強光順化される。一方、培養槽Aの細胞によって光が遮られるため、培養槽Bの細胞には弱い光が当たり弱光順化を起こす。別に培養槽Aの厚さと培養槽Bの厚さを足し合わせた厚さの培養槽C（例えば厚さ3 cm）を用意する。培養槽Cにおいては、平均的な光の量が低いので弱光順化細胞が得られる。十分な光エネルギーを供給された培養槽Aの細胞では高い光合成活性、高い細胞増殖速度と低い光遮蔽（細胞濃度が低く、また、アンテナクロロフィル含量が低い）が達成され、培養槽Bでは弱光を用いる高効率の光合成（=増殖）が得られる。すなわち、培養槽Aでは図1の上の曲線で示される光合成速度が、培養槽Bでは下の曲線の光合成速度が得られる。一方、培養槽Cにおいては培養槽Bと同様一律に弱光順化細胞になっており、強光を当てても図1の下の方の曲線の光合成が得られない。従って、培養槽A+Bと培養槽Cの生産性を比較すると、培養槽A+Bの方が高い光合成活性、ひいては藻体あるいは物質生産性が得られる。

【0008】説明の便宜上、培養槽AとBを別物として取り扱ったが、培養槽Cを透明材料で区切るだけでも同様の生産性の向上が可能であり、また、3枚の培養槽を用いても、あるいは3区画に区切っても生産性の向上が可能である。区画に用いる材料は透明な薄膜で十分であり、培養槽製造に必要な材料費の節約も可能である。一般的な培養槽の厚さとしては、光源から近い物で1~2 cm、光源から遠い物で2~5 cmが適しているが、用いる光合成微生物の種類によっても適正な厚さは異なる。連続培養は、両培養槽で独立に行ってもよいし、培養槽Aからのオーバーフローで培養槽Bへ導いてもよい。このような培養槽を用いて培養する光合成微生物としては、光合成細菌、単細胞の微細藻類、糸状の微細藻類、単細胞ラン藻、糸状のラン藻などが対象として挙げられる。また、これらの培養に用いる培地としてはこれまでに微細藻類用に考案されてきたあらゆる培地が使用可能である。具体例としては、BG-11、MC、ESM、PE S、SOT、MDM、MBM等である。また、培地に二酸化炭素以外の炭素源を添加した光従属的な培養も可能である。

【0009】培養槽の材質としては、アクリル、ガラス、ポリカーボネートなど透明性が高く、細胞毒性の無いものならばいずれも可能であるが、屋外の使用を前提とする場合は紫外線耐性の材料が適切である。培養槽の大きさは、培養に必要な容量に基づいて自由に高さと幅を設計できる。光源も特定しないし、光強度も特定しない。また、第2図では、平板培養槽を直立させたものを示しているが、屋外において太陽光を利用するケースでは設置場所の緯度に応じて平板培養槽を傾斜させた物を用いてもよい。さらに、屋外の大量培養においては、平板型培養槽のセット（例えば培養槽A+B）を適度の間隔

を隔てて複数設置することも可能である。培養槽の上部は特に蓋をせず開放しておくことも出来るが、無菌的な培養を行う場合には蓋をして密封し、事前に5~10%の過酸化水素を培養槽内に導入して滅菌する事も可能である。

【0010】

【実施例】以下、実施例により本発明を具体的に説明する。図2に示す培養槽を用いて、温泉ラン藻*Synechocystis aquatilis* SI-2株を回分培養した例を以下に示す。水道水に対して岩手県釜石湾より採取した海水を9対1の割合で混合した1.0%海水1リッターに対して以下の栄養塩類を添加したものを培養液として用いた。

【0011】

NaNO ₃	2.0g
NaHCO ₃	1.0g
KH ₂ PO ₄	0.2g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.1g
Clewat 32	50mg
Fe-EDTA	3.0mg

【0012】厚さ1 cmの培養槽A、2 cmの培養槽Bを図2のように配置し、さらに厚さ3 cmの培養槽Cを準備して、培養槽Aには強光順化細胞、培養槽BとCには弱光順化細胞を同じ濃度で植え込んだ。培養槽の素材は厚さ1 cmの透明アクリル樹脂である。白色蛍光灯を用いて培養槽A+BとCに平均強度400 μmol m⁻² s⁻¹の光を片側から照射し、また、両培養槽を高温水浴内に設置して培養温度を40℃に保った。両培養槽の底部に散気管を設けて、5% O₂を含んだ空気を0.5 vvmの速度で通気し、培養液を攪拌した。実容量は培養槽Aが300 ml、Bが600 ml、Cが900 mlであった。

【0013】図3に各培養槽における短時間の増殖曲線を示す。培養槽Aにおいて4.5時間のうちに0.3 g l⁻¹の増殖が認められた。同じ時間内で、培養槽Bでは0.1、培養槽Cでは0.13 g l⁻¹の細胞量の増加が認められた。生産性の観点で比較すると、培養槽A+Bで0.034 g l⁻¹ h⁻¹の生産性が得られたのに対し、培養槽Cでは0.026 g l⁻¹ h⁻¹であった。すなわち、培養槽A+Bの方が約31%高い生産性を示した。さらに、時間を延長して20時間の回分培養においても、培養槽Aで2.42、Bで0.61、Cで0.88 g l⁻¹の細胞量の増加があり、生産性では培養槽A+Bの方が約38%高かった。

【0014】

【発明の効果】本発明は、光合成微生物の新規な培養手段を提供するものである。従来型の均一系の培養ではなく、人為的に不均一な細胞を作り出すことによって、光エネルギーを有効に活用することができる。既に開発されている平板型の高効率光合成微生物培養槽の内部を透明な素材で区切るという単純な工夫で、生産性を大幅に（具体的には30~40%程度）向上させることができる。

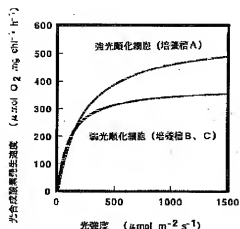
【図面の簡単な説明】

【図1】弱光順化細胞と強光順化細胞の典型的な光強度-光合成反応曲線を示す図

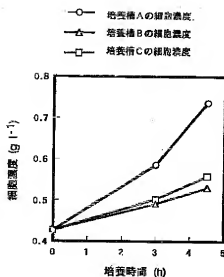
【図2】本培養方法に用いる培養槽の概念図

【図3】本培養方法によって温泉ラン藻 *Synechocystis aquatilis* SI-2株を培養した結果を示す図

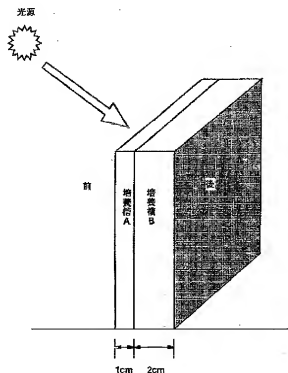
【図1】



【図3】



【図2】



フロントページの続き

(72)発明者 張 凱
岩手県釜石市平田第3地割75番1 株式会社
社海洋バイオテクノロジー研究所釜石研究
所内

Fターム(参考) 4B029 AA02 AA08 BB02 BB04 CC01
DB11 DF10 GA08 GB04
4B065 AA01X AA83X AC09 BA30
BC07 BC50 CA60